

## ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ СИНТАЗА NO МОДУЛИРУЕТ ФУНКЦИЮ ГЛАДКИХ МЫШЦ КАПСУЛЫ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ

Лобов Г.И., Панькова М.Н.

*Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, Санкт - Петербург,  
Россия*

Известно, что у млекопитающих лимфатическая система в виде лимфатических капилляров, посткапилляров и сосудов разного калибра представлена практически во всех органах и тканях [1]. Лимфа на своем пути от каждого органа обязательно проходит через лимфатический узел, а чаще - через несколько [1].

Лимфатический узел является важнейшим элементом иммунной системы, поскольку в нем осуществляется контакт между антигенами, поступающими с лимфой из тканей, антигенпрезентирующими клетками и лимфоцитами. Узел снаружи покрыт соединительнотканной капсулой, в состав которой входит значительное количество гладкомышечных клеток.

Внутри лимфатического узла находится система сообщающихся друг с другом каналов - лимфатических синусов, по которым лимфа медленно течет через лимфатический узел. Синусы представляют собой узкие щелевидные пространства, выстланные видоизмененным эндотелием - литоральными клетками, отростки которых заполняют синус и создают серьезное препятствие на пути движения лимфы.

Литературных данных о механизмах движения лимфы через лимфатический узел крайне мало. Лишь в нескольких работах описана сократительная активность лимфатических узлов.

Роль эндотелиальных клеток, выстилающих синусы узла в регуляции сократительной деятельности гладких мышц капсулы лимфатических узлов к настоящему времени не изучена.

Между тем, эндотелиоциты, будучи высоко чувствительными к медиаторам воспаления, могут продуцировать различные вазоактивные вещества и существенно изменять скорость движения лимфы через лимфатические узлы.

**Материал и методы исследования.** Исследование проведено на полосках ( $n=36$ ) капсулы изолированных брыжеечных лимфатических узлов быка. В средней части узла вырезали циркулярно ориентированные полоски длиной 20 мм и шириной 4 мм.

Полоски размещали в вертикальной термостатируемой камере объемом 1,25 мл, нижний конец полоски фиксировали неподвижно, а верхний присоединяли к изометрическому датчику силы FORT-10.

Эксперименты проводили при непрерывном протоке физиологического раствора Кребса следующего состава (в мМ/л): NaCl - 120,4; KCl - 5,9;  $\text{CaCl}_2$  - 2,5;  $\text{MgCl}_2$  - 1,2;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  - 1,2;  $\text{NaHCO}_3$  - 15,5; глюкоза - 11,5. Исследуемые полоски капсулы лимфатического узла подвергали натяжению в соответствии с законом Лапласа, исходя из величины трансмурального давления в узле 2 и 5 см  $\text{H}_2\text{O}$ .

**Результаты и их обсуждение.** В нашем исследовании показано, что полоски капсулы брыжеечных лимфатических узлов быка с небольшим слоем коркового вещества обладают способностью к спонтанной сократительной активности.

Зарегистрированные спонтанные фазные сокращения гладких мышц капсулы узла по своим параметрам сильно отличались от фазных сокращений миоцитов брыжеечных лимфатических сосудов быка, они редкие ( $1,1 \pm 0,14 \text{ мин}^{-1}$ ) и продолжительные ( $47,4 \pm 4,23 \text{ с}$ ). Ранее было установлено, что афферентные и эфферентные лимфатические сосуды спонтанно сокращаются с частотой 12-14 и 5-8  $\text{мин}^{-1}$  соответственно [3,4].

Полоски капсулы с полностью удаленным корковым веществом (при этом разрушаются и удаляются эндотелиоциты субкапсулярного синуса) при одинаковых экспериментальных условиях спонтанно сокращались с достоверно более высокой частотой по сравнению с препаратами с сохраненным субкапсулярным синусом.

Амплитуда фазных сокращений этих препаратов также была достоверно ниже. Этот факт дал нам основание полагать, что эндотелиальные клетки субкапсулярного синуса лимфатических узлов постоянно продуцируют вещество(а), способствующее релаксации гладких мышц капсулы.

Действие блокатора eNOS - L-NAME ( $1 \times 10^{-4} \text{ М}$ ) на препараты с

сохранным субкапсулярным синусом приводило к медленно развивающимся учащению ритма спонтанных фазных сокращений и уменьшению их амплитуды. Уровень тонического напряжения полосок несколько повышался. Максимальный эффект L-NAME развивался к 15-20 минутам действия препарата.

Таким образом, следует считать доказанным факт базальной продукции NO эндотелиальными клетками субкапсулярного синуса лимфатических узлов. По-видимому, в лимфатических узлах, также, как и в лимфатических сосудах [3,5], параметры сократительной активности гладких мышц капсулы непрерывно модулируются NO, образующимся в эндотелиальных клетках.

После того, как была выявлена базальная продукция NO эндотелиоцитами субкапсулярного синуса лимфатических узлов, естественно было оценить способность эндотелиальных клеток лимфатических узлов реагировать на вазоактивные вещества изменением количества образующегося NO. С этой целью мы использовали ацетилхолин, являющийся классическим стимулятором эндотелиальной синтазы NO в кровеносных и лимфатических сосудах [3]. Введение в физиологический раствор ацетилхолина ( $1 \times 10^{-6}$  М) приводило к уменьшению амплитуды (на  $24 \pm 2,9\%$ ) и частоты (на  $36 \pm 3,2\%$ ) спонтанных сокращений полосок капсулы лимфатических узлов.

Еще более выраженной была релаксация в ответ на ацетилхолин гладких мышц капсулы, предварительно сокращенных гиперкалиевым раствором.

В этих опытах ацетилхолин приводил к снижению уровня тонического напряжения значительно ниже исходного. L-NAME практически полностью маскировал релаксирующий эффект ацетилхолина как в первом, так и во втором случае, что является доказательством его механизма релаксации гладких мышц капсулы узла через стимуляцию эндотелиальной синтазы NO. На фоне действия метиленового голубого и глибенкламида ацетилхолин приводил к незначительному уменьшению амплитуды и частоты фазных сокращений гладких мышц капсулы узла.

**Выводы.** Таким образом, есть основания полагать, что NO в цитоплазме гладких мышц капсулы, так же, как и в миоцитах кровеносных и лимфатических сосудов [2,5] стимулирует растворимую гуанилатциклазу, приводя к повышению концентрации цГМФ.

Последний активирует АТФ-чувствительные  $K^{+}$ -каналы мембраны, что ведет к гиперполяризации мембраны и соответственно, к урежению ритма

спонтанных сокращений гладких мышц капсулы лимфатических узлов и уменьшению их амплитуды.

Таким образом, эндотелиальные клетки субкапсулярного синуса лимфатических узлов быка при растяжении до состояния, близкого к физиологическому, постоянно высвобождают NO (базальная продукция). Активность eNOS существенно изменяется при действии различных гуморальных факторов, поступающих в лимфой, и соответственно модулируется сократительная функция гладких мышц капсулы лимфатических узлов.

#### **Литература:**

1. Сапин М. Р., Юрина Н. А., Этинген Л. Е. Лимфатический узел: (Структура и функции). М. Медицина, 1978.
2. Cole W.C., Clement-Chomienne O. ATP-sensitive  $K^+$  channels of vascular smooth muscle cells. J Cardiovasc. Electrophysiol. 14 (1) : 94-103. 2003.
3. Ferguson M.K., DeFilippi V.J. Nitric oxide and endothelium-dependent relaxation in tracheobronchial lymph vessels. Microvasc Res. 47 (3) : 308-317. 1994.
4. McHale N.G., Roddie I.C.. The effects of catecholamines on pumping activity in isolated bovine mesenteric lymphatics. J. Physiol. 338 : 527-36. 1983. 278 (4) : G551 - G556. 2000.
5. von der Weid P.Y. ATP-sensitive  $K^+$  channels in smooth muscle cells of guinea-pig mesenteric lymphatics: role in nitric oxide and beta-adrenoceptor agonist-induced hyperpolarizations. Br. J. Pharmacol 125 (1) : 17-22. 1998.